

بررسی اثر عصاره مرزه، چای کوهی و پونه بر روی استافیلوکوکوس آرتوس مقاوم و حساس به متی سیلین

محمد ایروانی، رضا مقصودی*، پگاه کمالی

گروه میکروبیولوژی و ایمنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۱/۶

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۱۹

چکیده:

زمینه و هدف: هدف از این مطالعه یافتن ترکیبات گیاهی جدید و مطالعه اثرات ضد میکروبی عصاره مرزه، چای کوهی و پونه بر روی باکتری های استافیلوکوکوس آرتوس مقاوم و حساس به متی سیلین می باشد. روش بررسی: در این مطالعه ی توصیفی- تحلیلی، میزان MIC (حداقل غلظت مهارکنندگی رشد) و MBC (حداقل غلظت کشندگی) به روش رقیق سازی در میکروپلیت ۹۶ خانه و روش Broth Micro dilution تعیین گردید. میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئید و فلاونول در عصاره های گیاهی اندازه گیری شد و در پایان مقدار ترکیبات فوق بر اساس میلی گرم بر میلی لیتر گزارش گردید.

یافته ها: کم ترین میزان MIC مربوط به عصاره مرزه می باشد که برای هر ۲ سویه استاندارد ۵ میلی گرم بر میلی لیتر است. عصاره چای با MIC معادل ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر بالاترین میزان MIC را در مقابل استافیلوکوکوس آرتوس حساس به متی سیلین و به همراه عصاره پونه با MIC معادل ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر بالاترین میزان MIC را در مقابل استافیلوکوکوس آرتوس مقاوم به متی سیلین دارد. کم ترین میزان MBC نیز مربوط به عصاره مرزه می باشد که برای استافیلوکوکوس آرتوس حساس و مقاوم به متی سیلین ۵ میلی گرم بر میلی لیتر می باشد. بیش ترین میزان MBC در مقابل استافیلوکوکوس آرتوس مقاوم به متی سیلین مربوط به عصاره پونه می باشد. عصاره گیاه مرزه بالاترین میزان ترکیبات فنول، فلاونوئید و فلاونول (۱۶۹/۳۷، ۲۵/۸۲، ۱۴/۹۸ میلی گرم بر میلی لیتر) را دارد و مقدار ترکیبات فنولی این عصاره نسبت به دیگر عصاره ها بالاتر است. نتیجه گیری: عصاره مرزه تأثیر زیادی در جلوگیری از رشد استافیلوکوکوس آرتوس مقاوم و حساس به متی سیلین دارد که ناشی از بالا بودن میزان ترکیبات فنولی این عصاره می باشد.

واژه های کلیدی: مرزه، چای کوهی، پونه، استافیلوکوکوس آرتوس حساس و مقاوم به متی سیلین.

مقدمه:

موارد عمده ای از مرگ و میر و ابتلا در سطح جهان شده است؛ از این رو عفونت های ناشی از این پاتوژن و مشکلات مرتبط با آن نیازمند توجهات ویژه ای است (۴،۳). تخمین زده می شود، حدود ۴۴٪ از عفونت های بیمارستانی در سطح جهان به وسیله ی MRSA ایجاد می شود (۵). میزان بالایی از بودجه های بخش بهداشت و درمان از جمله هزینه های درمانی پس از ترخیص و هزینه های بستری و دارویی که صرف مبارزه با این پاتوژن

استافیلوکوکوس آرتوس، پاتوژن عمده انسانی است که عامل طیف گسترده ای از بیماری ها، عفونت ها، مسمومیت غذایی و عفونت های بیمارستانی می باشد که شیوع آن نیز رو به ازدیاد است (۱). توانایی بالقوه ی این باکتری در مقاومت سریع نسبت به بسیاری آنتی بیوتیک ها، پیدایش باکتری های مقاوم به متی سیلین (MRSA= Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) را منجر شده است (۲). ظهور MRSA برنامه های بهداشت عمومی را به چالش کشیده است و باعث بروز

*نویسنده مسئول: شهرکرد- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد- گروه میکروبیولوژی و ایمنولوژی- تلفن: ۰۹۱۳۱۸۱۲۸۴۸

E-mail: maghsoudireza@yahoo.com

ضد میکروبی آن به اثبات رسیده است و در طب سنتی کاربرد فراوانی دارد (۱۸). گیاه پونه کوهی (*Mentha pullegium*) نیز در خانواده لامیناسه قرار دارد و در سراسر مناطق معتدله رشد می کند. برگ، گل و ساقه گونه های پونه در مصارف خوراکی به عنوان افزودنی اضافه می گردد. این گیاه در طب سنتی برای درمان تهوع، برونشیت، نفخ و بی اشتهایی به کار گرفته می شود (۱۹، ۲۰). با توجه به تأثیرات نامطلوب و بروز مقاومت نسبت به داروهای شیمیایی و با توجه به پیامدهای ناگوار ناشی از پاتوژن های مقاوم به دارو، این مطالعه با هدف یافتن ترکیبات گیاهی جدید و مطالعه اثرات ضد میکروبی غلظت های مختلف عصاره مرزه، چای کوهی و پونه بر روی باکتری های استافیلوکوکوس آئرئوس مقاوم و حساس به متی سیلین طراحی و اجرا شد.

روش بررسی:

بعد از شناسایی و جمع آوری گیاهان از نواحی مختلف استان، قسمت های مورد نیاز گیاهان جدا شده و در شرایط مناسب (تاریک و خشک) نگهداری و به طور کامل خشک گردیدند. بعد از خشک شدن و آسیاب کردن قسمت های مورد استفاده عصاره گیری انجام شد (۲۱). برای تهیه عصاره، ابتدا ۱۰۰ گرم از پودرهای گیاهی تهیه شده را با استفاده از ترازوی دیجیتال توزن نموده و آن را به نسبت ۵ به ۱ با آب مقطر مخلوط می کنیم. مخلوط حاصل را پس از نگهداری ۲۴ ساعته در دمای آزمایشگاه به وسیله ی گاز ۴ لایه و قیف صاف کرده و به منظور جدا کردن ناخالصی ها، عصاره ها را به مدت ۲۰ دقیقه در دور ۲۵۰۰ rpm، در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ می کنیم؛ سپس عصاره ها به منظور خارج کردن آب اضافی به دستگاه تقطیر در خلاء منتقل شده و در نهایت عصاره ی نسبتاً غلیظی از گیاهان به دست آمد. به منظور استریل نمودن عصاره ها از آلودگی میکروبی همه عصاره ها از

می شود، بسیار بالاست (۶). به طوری که بار هزینه های سالیانه ای که کشور آمریکا برای مقابله با پیامدهای این معضل بهداشتی صرف می کند، بالغ بر ۱۳/۸ میلیارد دلار است (۷). از طرف دیگر توجه به سویه های استافیلوکوک حساس به آنتی بیوتیک نیز حائز اهمیت است؛ چرا که کلونیزاسیون این سویه ها در محیط های بیمارستانی می تواند ناقلین MRSA را افزایش دهد (۸). البته حاملینی که این ویروس را از جامعه کسب می کنند نیز می توانند خطر مهمی برای بهداشت عمومی باشند (۹). حتی در برخی موارد، میزان ویرولانسن سویه های حساس به متی سیلین (MSSA= methicillin-susceptible *S. aureus*) از سویه های مقاوم به متی سیلین بیش تر است (۱۰). گسترش روز افزون مقاومت آنتی بیوتیکی بعضی از سویه های استافیلوکوک آئرئوس از جمله MRSA نسبت به آنتی بیوتیک هایی نظیر پنی سیلین، سیپروفلوکساسین، اریتروماکسین، کلیندامایسین، تتراسایکلین، آمیکاسین، سفتریاکسون، جنتامایسین، موپروسین، ریفامپین و جنتامایسین باعث شده است که تلاش های مستمری برای یافتن داروهای جدید ضد میکروبی صورت گیرد (۱۱، ۱۲). یکی از انواع مقاومت دارویی در این باکتری، مقاومت نسبت به متی سیلین می باشد که به دلیل بیان ژن *mecA* به وجود آمده است. این ژن به وسیله کاست های کروموزومومی استافیلوکوکوسی (SCCmec) حمل می شود و این ژن مرتبط با تولید پروتئینی بنام PBP2a است که در مقاومت به متی سیلین نقش دارد (۱۳، ۱۴). گیاه مرزه (*Satureja hortensis*) یکی از جنس های خانواده ی نعنا (*Lamiaceae*) می باشد که علاوه بر کاربردهای متعددی که در طب سنتی دارد، به دلیل داشتن موادی نظیر ترکیبات فنلی، تیمول و کارواکرول می تواند اثرات ضد میکروبی در پاتوژن های باکتریایی انسانی داشته باشد (۱۷-۱۵). گیاه چای کوهی (*Stachys lavandulifolia* Vahl) گیاهی علفی با بوته های کوتاه است (۶۰-۲۰ سانتی متر) که اثرات

فیلترهای میکروبی ۰/۴۵ میکرونی عبور داده می شوند و برای ادامه کار در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند (۲۲).

باکتری های *S. aureus* (ATCC29213)، *S. aureus* (PTCC1431) از سازمان پژوهش علمی و صنعتی ایران تهیه و کشت آن طبق دستور سازمان سازنده انجام گردید و یک سوسپانسیون باکتریایی مطابق استاندارد نیمه مک فارلند (10^5 CFU/mL) از باکتری ها تهیه گردید؛ سپس برای تعیین MIC (حداقل غلظت مهارکنندگی رشد) و MBC (حداقل غلظت کشندگی) از روش Broth Micro dilution استفاده گردید (۲۱). در این روش حداقل غلظت کشندگی (MBC) و بازدارندگی از رشد (MIC) عصاره مرزه، چای کوهی و پونه تعیین شد. آزمایش MIC در پلیت ۹۶ خانه استریل و با روش براث میکرودايلوشن انجام شد. بدین ترتیب که ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری های مذکور را به چاهک های حاوی ۵۰ میکرولیتر از غلظت های مختلف عصاره مرزه، چای کوهی و پونه و ۵۰ میکرولیتر محیط Muller Hinton Broth اضافه کردیم. تنها چاهک اول (کنترل مثبت) حاوی سوسپانسیون میکروبی و محیط Muller Hinton Broth و چاهک دوم (کنترل منفی) حاوی محیط Muller Hinton Broth و عصاره ها بود.

برای تهیه رقت های مختلف، ابتدا ۸۰ میلی گرم عصاره را با ۱ میلی لیتر محلول دی متیل سولفوکساید ۵٪ (DMSO) مخلوط می کنیم تا رقت ۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر از هر عصاره به دست آید؛ سپس با استفاده از محیط کشت مولر هینتون براث و تهیه سری رقت، رقت های ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ... میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره ها ساخته شد. در پایان نمونه ها را به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه کردیم.

برای تعیین MIC طبق تعریف، غلظت آخرین (رقیق ترین) چاهکی که هیچ کدورتی در آن ایجاد نشده است، معادل MIC در نظر گرفته شد و برای

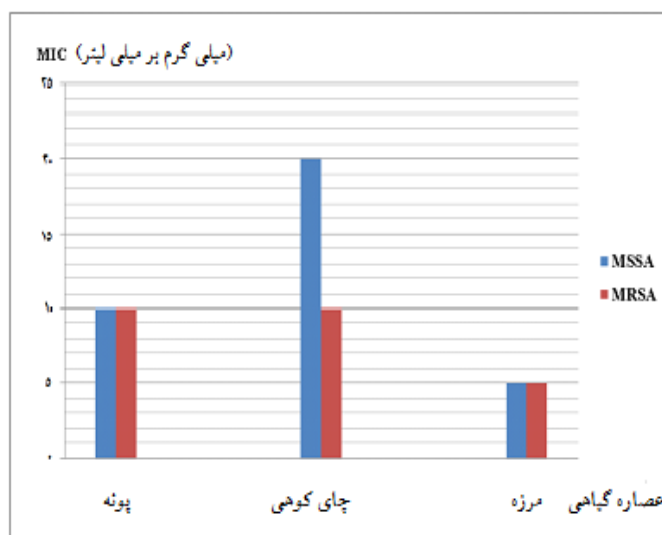
تعیین MBC همه چاهک های فاقد کدورت جداگانه بر روی محیط بلاد آگار کشت داده شدند؛ سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. کم ترین غلظتی که باکتری در آن رشد نکرده بود را به عنوان MBC گزارش دادیم؛ همچنین میزان ترکیبات فنولی کل در عصاره های گیاهی بر اساس روش رنگ سنجی فولین- سیوکالتیو و بر حسب اسید گالیک و به کمک رسم منحنی استاندارد اندازه گیری شد. میزان ترکیبات فلاونوئید و فلاونول بر اساس روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم و بر حسب روتین و به کمک رسم منحنی استاندارد اندازه گیری شد و در پایان مقدار ترکیبات فوق بر اساس میلی گرم بر میلی لیتر گزارش گردید (۲۳).

یافته ها:

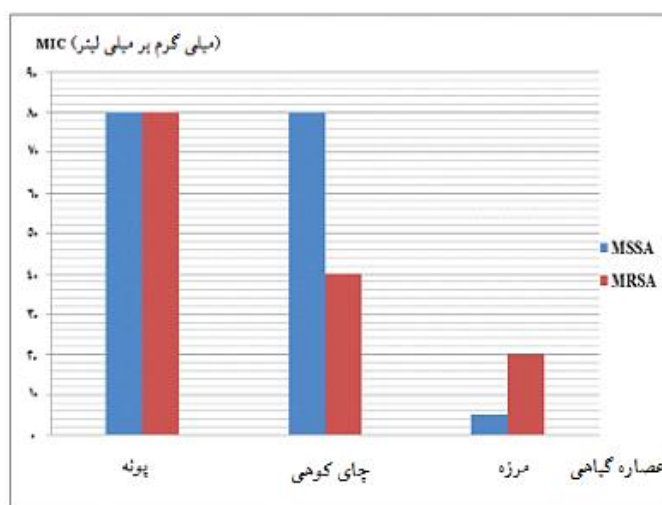
در این مطالعه کم ترین میزان MIC مربوط به عصاره مرزه می باشد که برای هر دو سوش مقاوم حساس به متی سیلین ۵ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد. عصاره چای کوهی با MIC معادل ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر بالاترین میزان MIC را در مقابل *استافیلوکوک آرتروس* حساس به متی سیلین نشان می دهد و به همراه عصاره پونه با MIC معادل ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر بالاترین میزان MIC را در مقابل *استافیلوکوکوس آرتروس* مقاوم به متی سیلین دارد (نمودار شماره ۱). کم ترین میزان MBC نیز مربوط به عصاره مرزه می باشد که برای هر دو گونه *استافیلوکوکوس آرتروس* حساس و مقاوم به متی سیلین برابر ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر می باشد. بیش ترین میزان MBC در مقابل *استافیلوکوکوس آرتروس* حساس به متی سیلین ۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر است که مربوط به عصاره پونه و چای می باشد. بیش ترین میزان MBC در مقابل *استافیلوکوکوس آرتروس* مقاوم به متی سیلین ۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر و مربوط به عصاره پونه می باشد (جدول شماره ۱) (نمودار شماره ۲).

دول شماره ۱: تأثیر عصاره های گیاهی بر روی استافیلوکوکوس آئروس حساس و مقاوم به متی سیلین

عصاره	سویه های حساس به متی سیلین		سویه های مقاوم به متی سیلین	
	MBC	MIC	MBC	MIC
	میلی گرم بر میلی لیتر		میلی گرم بر میلی لیتر	
پونه	۸۰	۱۰	۸۰	۱۰
چای کوهی	۴۰	۱۰	۸۰	۲۰
مرزه	۲۰	۵	۲۰	۵



نمودار شماره ۱: مقایسه مقدار MIC در استافیلوکوکوس آئروس حساس و مقاوم به متی سیلین



نمودار شماره ۲: مقایسه مقدار MBC در استافیلوکوکوس آئروس حساس و مقاوم به متی سیلین

در بین عصاره ها، عصاره مرزه بالاترین میزان را در هر ۳ ترکیب فنول، فلاونوئید و فلاونول با مقدار (۱۶۹/۳۷، ۲۵/۸۲، ۱۴/۹۸) نشان می دهد که البته مقدار ترکیبات فنولی این عصاره نسبت به سایر ترکیبات دیگر عصاره ها به میزان چشمگیری بالاتر است.

جدول شماره ۳: مقدار ترکیبات سازنده عصاره های گیاهی

گیاهی	ترکیبات		
	فلاونول	فلاونوئید	فنول
عصاره	میلی گرم بر میلی لیتر		
پونه	۴/۳۶	۱۰/۵۵	۱۲۶/۷
چای کوهی	۱۴/۶	۱۸	۱۴۴
مرزه	۱۴/۹۸	۲۵/۸۲	۱۶۹/۳۷

بحث:

این مطالعه با هدف تعیین تأثیر عصاره مرزه، چای کوهی و پونه بر روی *استافیلوکوکوس آرنوس* مقام به متی سیلین و حساس به متی سیلین انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد که اگرچه مقدار MBC و MIC برای عصاره پونه و چای کوهی در حالت مطلوبی قرار ندارد، ولی عصاره مرزه تأثیر بسیار چشمگیر و قابل ملاحظه ای در جلوگیری از رشد هر دو نوع *استافیلوکوکوس آرنوس* حساس و مقاوم به متی سیلین داشته است. بدین ترتیب می توان از این عصاره به عنوان یک داروی بسیار مؤثر در درمان عفونت های *استافیلوکوکوسی* استفاده کرد. هم راستا با این نتایج، مطالعه ای که توسط سعیدی و همکاران صورت گرفت، عصاره ی اتانولی مرزه در غلظت ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر، دارای بیش ترین اثر مهار بر روی رشد *استافیلوکوکوس* مقاوم به دارو است (۲۴). مطالعات دیگر نیز نشان دادند که روغن های ضروری موجود در مرزه می توانند خواص ضد میکروبی علیه ایزوله های *استافیلوکوکوس* از جمله MRSA داشته باشند و به عنوان یک یک ماده ی ضد *استافیلوکوک*

طبیعی مورد استفاده قرار بگیرد (۲۵). Djenane و همکاران در بررسی های خود نشان دادند که گیاه مرزه به دلیل داشتن روغن های ضروری و الکلی، می تواند خواص ضد میکروبی مطلوبی داشته باشد و حساسیت باکتری های گرم مثبتی نظیر *استافیلوکوک آرنوس* بیشتر است (۱۷)، اما در بررسی های دیگر نشان داده شد که گیاه مرزه تأثیری بر بیان ژن های مرتبط با ویرو لانس باکتری هایی نظیر *اسیتوباکتریومانی* ندارد (۲۶). با توجه به پایین بودن مقدار MBC و MIC عصاره مرزه نسبت به سایر عصاره ها می توان گفت که این ویژگی بیشتر مرهون بالا بودن میزان ترکیبات فنولی این گیاه باشد.

همچنین در این مطالعه مشخص شد که گیاه مرزه دارای میزان بالایی از ترکیبات الکلی و آنتی اکسیدانت از جمله فلاونول، فلاونوئید و فنول است که این مسئله در تحقیقات دیگر نیز به اثبات رسید. به عنوان مثال در مطالعه ای مشخص شد که گیاه مرزه دارای ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدی است که از آن ها می توان به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی در صنایع غذایی استفاده کرد (۲۷). نتایج مشابه در تحقیق Zeljkovic و همکاران و Yesiloglu و همکاران که بر روی این گیاه انجام شده بود، گزارش شد (۲۸، ۲۹). مطالعه ی آهنگان و همکاران نیز نشان داد که گیاه مرزه به دلیل داشتن روغن های ضروری (حدود ۱۳ ترکیب)، تأثیرات ضد میکروبی بر باکتری های مورد مطالعه از جمله *استافیلوکوک آرنوس* دارد (۱۶).

اگرچه در این مطالعه چای کوهی خواص بازدارندگی و کشندگی خوبی در مقابل MSSA از خود نشان نداد، اما در مقابل سویه های مقاوم به متی سیلین خواص مذکور را بهتر نشان داد. در پژوهشی که به ارزیابی ترکیبات شیمیایی و فعالیت ضد باکتریایی اسانس گیاه چای کوهی و خوشاریزه می پرداخت، مشخص شد که چای کوهی دارای ترکیبات تیمول، ترانس کارپوفیلن، بتافلاندرن، اسپاتونول و کاریوفیلن اکساید است و می تواند در غلظت های ۲/۳ میلی گرم

از تفاوت در ترکیبات آن ها و خصوصیات مرتبط با رویشگاه گیاه باشد.

نتیجه گیری:

نتایج این مطالعه بیانگر آن است که علی رغم تأثیر چشمگیر عصاره مرزه در تماس مستقیم با استافیلوکوک آئرئوس و ممانعت از رشد و تکثیر باکتری، این عصاره تأثیر چندان متفاوتی بر روی MRSA در مقایسه با MSSA ندارد و حداقل غلظت کشندگی در MRSA بالاتر بود. با این وجود می توان از عصاره ی این گیاه در درمان عفونت های چرکی استافیلوکوکوسی به عنوان یک ماده ی ضد میکروب طبیعی استفاده کرد. چای کوهی خواص بازدارندگی و کشندگی خوبی نسبت به عصاره ی مرزه در مقابل MSSA از خود نشان نداد، اما در مقابل سویه های مقاوم به متی سیلین این خواص بهتر نمایان شد. کم ترین اثرات ضد میکروبی مربوط به گیاه پونه بود که حساسیت هر دو گونه باکتری حساس و مقاوم به متی سیلین یکسان بود. پیشنهاد می شود در مطالعات آینده فعالیت آنتی بیوتیکی این گیاهان بر حسب بروز ژن های مقاوم به دارو مورد ارزیابی قرار گیرد. عدم تحلیل تمامی ترکیبات ضد میکروبی گیاهان مورد مطالعه و بررسی خواص تک به تک این مواد در باکتری ها از محدودیت های این پژوهش بود.

تشکر و قدردانی:

این مقاله استخراج شده از نتایج طرح تحقیقاتی مصوب در معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد به شماره ۱۵۲۴ می باشد. از کارشناس محترم آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده پزشکی شهرکرد که در طی انجام این تحقیق از مساعدت و همراهی ایشان بهره مند شدیم، تشکر می نمایم.

بر میلی لیتر خاصیت بازدارندگی در باکتری های تحت مطالعه از جمله استافیلوکوک آئرئوس داشته باشد (۳۰). در بررسی های دیگر نیز نشان داده شد که عصاره های الکلی سرشاخه های گل چای کوهی دارای خاصیت ضد باکتریایی قابل ملاحظه ای خصوصاً در باکتری های گرم مثبتی مانند استافیلوکوک آئرئوس بود (۳۱)، اما در مطالعات دیگر فعالیت ضد باکتریایی روغن های ضروری این گیاه در باکتری های گرم منفی نسبت به گرم مثبت بیشتر بود (۳۲). این مطلب را می توان چنین توجیح کرد که ترکیبات روغنی گیاه چای کوهی تحت تأثیر خصوصیات ژنتیکی و اکوتایی، شرایط محیطی و منشاء جغرافیایی قرار می گیرند؛ بدین لحاظ این گیاه می تواند خواص آنتی میکروبیال متغیری از خود بروز دهد (۱۸).

در مطالعه ی حاضر گیاه پونه در غلظت های بالا توانایی باکتریو استاتیکی و باکتریوسایدی را از خود نشان داد و حساسیت هر ۲ گونه باکتری حساس و مقاوم به متی سیلین یکسان بود. مطالعه ای که بر روی تأثیر عصاره ی گیاهی پونه ی کوهی توسط مسلمی و همکاران صورت گرفت، نشان داد که کارواکرول و تیمول از جمله ترکیبات اصلی این گیاه بوده که دارای خاصیت ضد میکروبی هستند و می تواند اثری مهارکننده بر روی رشد باکتری های استافیلوکوک آئرئوس و نهایتاً تسریع در روند بهبودی زخم داشته باشد. در مطالعه ی چیتساز نیز اثر متانولی گیاه پونه ی کوهی بر جلوگیری از رشد باکتری های استافیلوکوک آئرئوس گزارش شده است، اما در مطالعه ای دیگر مشخص شد که گیاه پونه ی کوهی تأثیری بر رشد باکتری های مورد مطالعه از جمله استافیلوکوکوس آئرئوس نداشت (۳۳، ۳۴). مطالعه پژوهی و همکاران نیز نشان می دهد که اسانس زیره سبز نسبت به اسانس پونه کوهی فعالیت ضد میکروبی بیشتری بر روی باکتری استافیلوکوکوس آئرئوس دارد (۳۵). تفاوت در فعالیت ضد میکروبی اسانس های مورد مطالعه می تواند ناشی

منابع:

1. Shopsis B, Kreiswirth BN. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Emerg Infect Dis. 2001; 7(2): 323-6.
2. Peacock SJ, Paterson GK. Mechanisms of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. Annu Rev Biochem. 2015; 84: 577-601.
3. Deurenberg RH, Stobberingh EE. The evolution of *Staphylococcus aureus*. Infect Genet Evol. 2008; 8(6): 747-63.
4. Klevens RM, Morrison MA, Nadle J, Petit S, Gershman K, Ray S, et al. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. JAMA. 2007; 298(15): 1763-71.
5. Gould IM, Reilly J, Bunyan D, Walker A. Costs of healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its control. Clin Microbiol Infect. 2010; 16(12): 1721-8.
6. Nelson RE, Jones M, Liu CF, Samore MH, Evans ME, Graves N, et al. The impact of healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections on post-discharge healthcare costs and utilization. Infect Control Hosp Epidemiol. 2015; 36(5): 534-42.
7. Lee BY, Singh A, David MZ, Bartsch SM, Slayton RB, Huang SS, et al. The economic burden of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). Clin Microbiol Infect. 2013; 19(6): 528-36.
8. Demirel G, Findik D, Dagi HT, Arslan U. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and genotypes among university students in Turkey. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2014; 45(6): 1401-9.
9. Okesola AO. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*- a review of literature. Afr J Med Med Sci. 2011; 40(2): 97-107.
10. Gordon RJ, Lowy FD. Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. Clin Infect Dis. 2008; 46 (Suppl 5): S350-9.
11. Rahimi F, Bouzari M. Biochemical Fingerprinting of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated From Sewage and Hospital in Iran. Jundishapur J Microbiol. 2015; 8(7): e19760.
12. Ohadian Moghadam S, Pourmand MR, Aminharati F. Biofilm formation and antimicrobial resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from burn patients, Iran. J Infect Dev Ctries. 2014; 8(12): 1511-7.
13. Hiramatsu K, Cui L, Kuroda M, Ito T. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Trends Microbiol. 2001; 9(10): 486-93.
14. Longo D, Fauci A, Kasper D, Hauser S. Harrison's principles of internal medicine. 18th ed: USA: McGraw-Hill Professional; 2011.
15. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods--a review. Int J Food Microbiol. 2004; 94(3): 223-53.
16. Ahanjan M, Ghaffari J, Mohammadpour G, Nasrolahie M, Haghshenas MR, Mirabi AM. Antibacterial activity of *Satureja bakhtiarica* bung essential oil against some human pathogenic bacteria. Afr J Microbiol Res. 2011; 5(27): 4764-8.
17. Djenane D, Yanguela J, Amrouche T, Boubrit S, Boussad N, Roncales P. Chemical composition and antimicrobial effects of essential oils of *Eucalyptus globulus*, *Myrtus communis* and *Satureja hortensis* against *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* in minced beef. Food Sci Technol Int. 2011; 17(6): 505-15.
18. Pirbalouti AG, Mohammadi M. Phytochemical composition of the essential oil of different populations of *Stachys lavandulifolia* Vahl. Asian Pac J Trop Biomed. 2013; 3(2): 123-8.
19. Moreno L, Bello R, Primo-Yufera E, Esplugues J. Pharmacological properties of the methanol extract from *Mentha suaveolens* Ehrh. Phytother Res. 2002; 16 (Suppl 1): S10-3.

20. Iscan G, Kirimer N, Kurkcuoglu M, Baser KH, Demirci F. Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. J Agric Food Chem. 2002; 50(14): 3943-6.
21. Dulger B, Gonuz A. Antimicrobial activity of certain plants used in Turkish traditional medicine. Asian J Plant Sci. 2004; 3(1): 104-7.
22. Ahmad I, Beg AZ. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. J Ethnopharmacol. 2001; 74(2): 113-23.
23. Talei GR, Meshkatsadat MH, Mosavi SZ. Antibacterial activity native medicinal plants extracts in Lorestan, Iran. J Gorgan Uni Med Sci. 2008;10(1):31-5.
24. Saeedi S, Khaleghi M, Poursaeedi S. Study of The antimicrobial activity of ethanol extract of Cayenne pepper, *Amaranthus retroflexus* and *Satureja hortensis* against antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* strains. Appl Biol. 2013; 25(2): 39-48.
25. Nedorostova L, Kloucek P, Urbanova K, Kokoska L, Smid J, Urban J, et al. Antibacterial effect of essential oil vapours against different strains of *Staphylococcus aureus*, including MRSA. Flavour Frag J. 2011; 26(6): 403-7.
26. Bahador A, Saghii H, Ataee R, Esmaeili D. The Study of inhibition effects *Satureja khuzestanica* essence against gene expression *acinetobacter baumannii* with real time PCR technique. Iran J Med Microbiol. 2015; 9(1): 42-9.
27. Kamkar A, Tooriyan F, Jafari M, Bagherzade M, Saadatjou S, Molaee Aghaee E. Antioxidant activity of methanol and ethanol extracts of *Satureja hortensis* L. in Soybean Oil. J Food Qual Hazards Control. 2014; 1(4): 113-9.
28. Zeljkovic SC, Topcagic A, Pozgan F, Stefane B, Tarkowski P, Maksimovic M. Antioxidant activity of natural and modified phenolic extracts from *Satureja montana* L. Ind Crops Prod. 2015; 76: 1094-9.
29. Yesiloglu Y, Sit L, Kilic I. In vitro antioxidant activity and total phenolic content of various extracts of *Satureja hortensis* L. collected from Turkey. Asian J Chem. 2013; 25(15): 8311.
30. Zarali M, Hojjati M, Didehban ST, Jooineh H. Evaluation of chemical composition and antibacterial activities of *Echinophora cinerea* Boiss and *Stachys lavandulifolia* Vahl essential oils in vitro. J Food Sci Tech. 2015; 52(13): 1-12.
31. Taheri M, Mahdavi S, Mehmannaavaz Y. Antibacterial activity of different extracts from the aerial parts and roots of *Stachys lavandulifolia* Vahl harvested at two stages of growth. J Herb Med. 2014; 5(1): 7-12.
32. Mahzooni-kachapi S, Mahdavi M, Roozbeh-nasira L, Akbarzadeh M, Rezazadeh F, Motavalizadehkakhky A. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils of *Stachys lavandulifolia* Vahl from Mazandaran, Iran. J Med Plants Res. 2012; 6(24): 4149-58.
33. Chitsaz M. In vitro Evaluation of Antibacterial Effect of *Stachys schtschegleevii*. Daneshvar Med J. 2006; 14: 1-8.
34. Meshkibaf MH, Abdollahi A, Fasihi Ramandi M, Adnani Sadati SJ, Moravvej A, Hatami S. Antibacterial effects of hydro-alcoholic extracts of *Ziziphora tenuior*, *Teucrium polium*, *Barberis corcorde* and *Stachys inflata*. koomesh. 2010; 11(4): 240-4.
35. Pajohi AM, Tajik H, Akhondzadeh A, Gandomi H, Ehsani A. A study on chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Mentha longifolia* L. and *Cuminum cyminum* L. in soup. J Food Sci Ind. 2012; 36(9): 1-12.

The effects of extract of *Satureja hortensis*, *Stachys lavandulifolia* Vahl, and *Mentha pullegium* on methicillin resistant and methicillin susceptible *Staphylococcus aureus* bacteria

Irvani M, Maghsoudi R^{*}, Kamali P

Microbiology and Immunology Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran.

Received: 9/Jan/2016 Accepted: 26/Jan/2016

Background and aims: The aim of this study was to find new plant components and study antimicrobial effect of extracts of *Satureja hortensis*, *Stachys lavandulifolia* Vahl, and *Mentha pullegium* on methicillin resistant and methicillin susceptible *Staphylococcus aureus* bacteria.

Methods: In this descriptive analytic study, Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were determined by broth microdilution in 96-well microplate. The level of phenolic, flavonoid, and flavonol components in the plant extracts was measured and at the end the above values were reported in mg/ml.

Results: The lowest MIC was obtained for *S. hortensis* extract which was 5 mg/ml for both standard strains. *S. lavandulifolia* extract with 20 mg/ml MIC had the highest MIC rate for methicillin susceptible *S. aureus* and, besides *M. pullegium* extract with 10 mg/ml MIC, had the highest MIC rate for methicillin resistant *S. aureus*. The lowest MBC was also obtained for *S. hortensis* which was 5 mg/ml for methicillin susceptible and methicillin resistant *S. aureus*. The highest MBC for methicillin resistant *S. aureus* was obtained for *M. pullegium* extract. *S. hortensis* extract contained the highest amounts of phenolic, flavonoid, and flavonol components (14.98, 25.82, 169.37 mg/ml), respectively and this extract's amount of phenolic components was higher compared to other extracts.

Conclusion: *S. hortensis* extract contributes greatly to inhibiting the growth of methicillin susceptible and methicillin resistant *S. aureus* which is due to this extract phenolic components high amount.

Keywords: *Satureja hortensis*, *Stachys lavandulifolia* Vahl, *Mentha pullegium*, Methicillin susceptible and methicillin resistant *Staphylococcus aureus*.

Cite this article as: Irvani M, Maghsoudi R, Kamali P. The effects of extract of *Satureja hortensis*, *Stachys lavandulifolia* Vahl, and *Mentha pullegium* on methicillin resistant and methicillin susceptible *Staphylococcus aureus* bacteria. J Shahrekord Univ Med Sci. 2016; 17(Suppl): 32-40.

***Corresponding author:**

Microbiology and Immunology Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran. Tel: 00989131812848, E-mail: maghsoudireza@yahoo.com